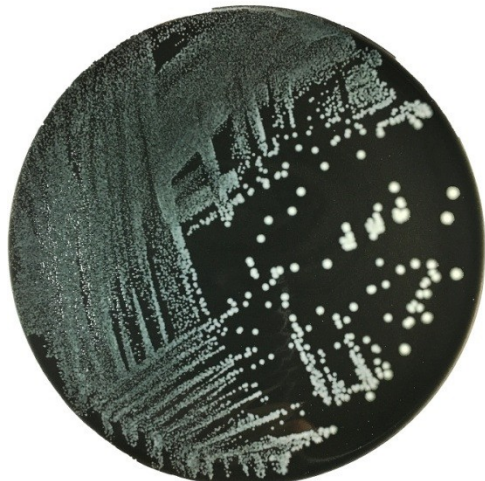


# CAMPYLOBACTER BLOOD FREE AGAR (KARMALI)

## Paruošti naudoti plokštelės



*Campylobacter coli* ant  
Campylobacter Blood Free Agar (Karmali)

### 1 - NAUDOJIMO PASKIRTIS

*In vitro* diagnostikos prietaisas. Selektivi terpė, skirta atsparių karščiui *Campylobacter* spp. izoliavimui iš klinikinų ir kitų mėginių.

### 2 - SUDĖTIS - TIPINĖ FORMULĖ \*

Peptokompleksas	10,000 g
Triptozas	10,000 g
Peptonas	3 000 g
Kukurūzų krakmolai	1,000 g
Natrio chloridas	5,000 g
Anglis	4,000 g
Hematin	0,032 g
Natrio piruvatas	0,100 g
Cikloheksimidas	0,100 g
Agaras	14,00 g
Cefoperazonas	0,032 g
Vankomicinas	0,020 g
Išgrynintas vanduo	1000 ml

\*Formulė gali būti koreguojama ir (arba) papildoma, kad atitiktų reikiamus veikimo kriterijus.

### 3 - METODO PRINCIPAS IR PROCEDŪROS PAAIŠKINIMAS

*Campylobacter* rūšys yra gramneigiamos, oksidazės teigiamos, nesporinės, S formos arba spiralės formos lazdelės, 0,2–0,9 μm pločio ir 0,5–5 μm ilgio. Organizmai paprastai juda naudodami vieną poliarinį neapgautą žiuželį viename arba abiejuose galuose, kuris suteikia jiems labai būdingą „korkšrautojo“ judrumą.<sup>1</sup> Mikroaerobiniam augimui reikalinga sumažinto deguonies (5–6 %) atmosfera. Dažniausiai su žmonių ligomis siejamos rūšys yra atsparios temperatūrai: jos auga 42–43 °C ir 37 °C temperatūroje, bet ne 25 °C. *Campylobacter jejuni* porūšis *doylei*, *Campylobacter fetus* ir *C. fetus* porūšis *venerealis* neauga 42 °C temperatūroje.<sup>2</sup>

*Campylobacter* infekcijos (kampilobakteriozės) simptomai paprastai svyruoja nuo visiškai nebūdingų iki sunkių, įskaitant karščiavimą, pilvo spazmus ir viduriavimą (su krauju/baltosiomis kraujo ląstelėmis arba be jų); viduriavimą gali lydėti pykinimas ir vėmimas. *C. jejuni* yra dažniausiai pripažįstama infekcija, kuri prieš tai sukelia Guillain-Barré sindromą.<sup>1</sup>

*Campylobacter* infekcijos įgyjamos suvartojant nepakankamai termiškai apdorotą paukštieną, jūros gėrybes, mėsą ir daržoves, per kontaktą su gyvūnais ir geriant neapdorotą vandenį ar pieną. Dauguma infekcijų sukelia *C. jejuni* subsp. *jejuni* ir *C. coli*; kitos rūšys, kurios kartais sukelia viduriavimą, yra *C. lari*, *C. fetus* subsp. *fetus*, *C. jejuni* subsp. *doylei* ir *C. upsaliensis*.

Nuo 1970 m. pradžios, kai *C. jejuni* ir *C. coli* buvo pripažintos kaip virškinimo trakto infekcijų, susijusių su apsinuodijimu maistu, sukėlėjai, buvo sukurta keletas skystų ir plokščiųjų kultūrinių terpės, kurios iš pradžių buvo skirtos išmatų tyrimui, o vėliau pradėtos naudoti *Campylobacter* bakterijų aptikimui maiste ir vandenyje.<sup>3</sup> Selektyviosios terpės *Campylobacter* izoliavimui susideda iš neselektyvios bazės, kuri gali būti naudojama su gyvūnų krauju arba be jo, ir antimikrobinių junginių mišinio; tarp literatūroje siūlomų izoliavimo terpių Corry ir Atabay<sup>3</sup> apžvalgoje minimos šios terpės: Skirrow, Blaser Wang, Preston, mCCD Bolton, mCCD Hutchinson ir Bolton, Karmali, Line TTC.

Campylobacter Blood Free Agar (Karmali) yra paruoštas pagal Karmali 1986 m. sukurtą formulę<sup>4</sup> ir skirtas atsparių karščiui *Campylobacter* spp. izoliavimui iš išmatų ir kitų neklinikinų mėginių.

Karmali ir kt. terpė yra Bolton, Hutchinson ir Coats<sup>5</sup>mCCDA variantas, kuriam vietoj geležies sulfato naudojamas hematinas, vietoj natrio deoksicholato – vankomicinas, o vietoj amfotericino B – cikloheksimidas.

Selektyvūs terpės agentai yra vankomicinas, turintis stiprų slopinamąjį poveikį Gram-teigiamoms bakterijoms, cefoperazonas, kuris daugiausia slopina Gram-neigiamų bakterijų augimą, ir cikloheksimidas, įtrauktas kaip priešgrybelinis junginys. Anglis (pakeičianti gyvulinį kraują), hematinas ir natrio piruvatas stimuliuoja *Campylobacter* augimą, didina jo atsparumą aerobinėms sąlygoms ir slopina toksinius junginius, susidarancius augimo metu.

Karmali terpė (KM) buvo palyginta su Skirrow terpe (SKM) siekiant išskirti *C. jejuni* ir *C. coli* iš viduriavimo turinčių pacientų išmatų.<sup>3</sup> Šios kampilobakterijos buvo izoliuotos iš 35 (2,9 %) iš 1227 ištirtų išmatų (29 abiejose terpėse, 5 tik KM terpėje ir viena tik SKM terpėje). Kiekvieną kartą, kai buvo išskirti *C. jejuni* ir *C. coli*, augimas buvo grynas 29 KM kultūrose (85 %), bet tik 11 SKM kultūrose (37 %). Visiškas „užteršiančios“ floros slopinimas įvyko 704 KM kultūrose (57 %), palyginti su 426 SKM kultūromis (35 %).

### 4 - FIZINĖS SAVYBĖS

Terpės išvaizda

Galutinis pH 20–25 °C temperatūroje

juoda, nepermatoma

7,4 ± 0,2

### 5 - PATEIKTOS MEDŽIAGOS - PAKUOTĖ

Produktas	Tipas	REF	Pakuotė
Campylobacter Blood Free Agar (Karmali)	Paruošti naudoti plokštelės	541136	2 x 10 plokštelių ø 90 mm pirminė pakuotė: 2 celofano maišeliai antrinė pakuotė: kartoninė dėžutė





## 6 - REIKALINGOS, BET NEPAITEKTOS MEDŽIAGOS

Sterilūs kilpos ir tamponai, inkubatoriai ir laboratorinė įranga pagal poreikį, kontroliuojamos atmosferos generatoriai ir stiklainiai, pagalbinės auginimo terpės ir reagentai kolonijų identifikavimui.

## 7 - MĖGINIAI

*Campylobacter* spp. izoliavimui iš pacientų, sergančių virškinimo trakto infekcijomis, pirmenybė teikiama išmatų mėginiams, tačiau kultūrai galima naudoti ir tiesiosios žarnos tamponus.<sup>3</sup> Jei įmanoma, mėginius surinkite prieš pradėdami antimikrobinį gydymą. Mėginių surinkimui, transportavimui ir laikymui turėtų būti taikomos geros laboratorinės praktikos. Dėl neklinikinių mėginių žr. taikytinus tarptautinius standartus.

## 8 - TYRIMO PROCEDŪRA

Leiskite plokštelėms pasiekti kambario temperatūrą ir išdžiūti terpės paviršiumi.

- Kietos išmatos: išmatos gali būti praskiestos 1:4 steriliu fiziologiniu tirpalu arba 0,1 % peptoniniu vandeniu. Įrodyta, kad praskiestimas žymiai sumažina konkuruojančios floros kiekį, nepakenkiant mažo skaičiaus patogenų izoliavimui.<sup>2</sup> Įterpti 3–5 lašus ant terpės paviršiaus.
- Skystos išmatos: įterpti 3 lašus ant terpės paviršiaus.
- Tiesiosios žarnos tepinėliai: tepinėlį perbraukite per nedidelį paviršiaus plotą krašte, tada iš šio įterpto ploto paimkite mėginį.

Visų tipų mėginiams tepkite kilpa per keturis plokštelės ketvirčius, kad gautumėte gerai izoliuotas kolonijas, užtikrindami, kad 1 ir 4 sekcijos nesutaptų.

Inkubuokite mikroaerobinėje aplinkoje, sudarytoje iš maždaug 5 % O<sub>2</sub>, 10 % CO<sub>2</sub> ir 85 % N<sub>2</sub>, 39–42 °C temperatūroje 40–48 valandas.<sup>2</sup>

## 9 - SKAITYMAS IR INTERPRETAVIMAS

Po inkubacijos stebėkite bakterijų augimą ir užrašykite konkrečias kolonijų morfologines ir chromatinės savybes. *Campylobacter* kolonijos paprastai yra pilkos/baltos arba kreminės pilkos spalvos, gausios ir drėgnos išvaizdos. Jos gali atrodyti kaip augimo sluoksnis ant agarų paviršiaus. Kolonijos paprastai yra nepigmentuotos.

*Campylobacter* rūšys yra oksidazės teigiamos. Jei kolonija, fenotipiškai panaši į *Campylobacter* rūšis, yra oksidazės neigiama, perkeltkite ją į kraujo agarą ir pakartokite tyrimą po 24 valandų inkubacijos.<sup>6</sup>

Tikėtinas termofilinių ir enteropatogeninių *Campylobacter* identifikavimas gali būti atliekamas remiantis oksidazės testu (+) ir būdinga judrumu.

Išsamus identifikavimo kriterijų ir metodų paaiškinimas pateiktas cituojamoje literatūroje.<sup>6</sup>

## 10 - VARTOTOJO KOKYBĖS KONTROLĖ

Visos pagamintos produkto partijos yra išleidžiamos į pardavimą po to, kai atlikta kokybės kontrolė, siekiant patikrinti atitiktį specifikacijoms. Tačiau galutinis vartotojas gali atlikti savo kokybės kontrolę pagal vietos galiojančius reglamentus, laikydamasis akreditacijos reikalavimų ir remdamasis laboratorijos patirtimi. Toliau pateikiami kai kurie bandymų štamai, naudingi kokybės kontrolei.

KONTROLINIAI ŠTAMAI	INKUBACIJOS TEMPERATŪRA / T / ATM	TIKĖTINI REZULTATAI
<i>C. jejuni</i> ATCC 33291	39–42 °C / 40–48 val. / M	geras augimas
<i>C. coli</i> ATCC 43478	39–42 °C / 40–48 val. / M	geras augimas
<i>E. coli</i> ATCC 25922	39–42 °C / 40–48 val. / M	iš dalies arba visiškai slopinamas
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	39–42 °C / 40–48 val. / M	slopinamas

M: mikroaerobinė inkubacija; ATCC yra American Type Culture Collection prekės ženklas

## 11 - VEIKIMO CHARAKTERISTIKOS

Prieš pateikiant į rinką, visų paruoštų naudoti *Campylobacter* Blood Free Agar (Karmali) plokštelių ir žaliavų, naudojamų paruoštų plokštelių gamybai (dehidratuota *Campylobacter* Blood Free Medium Base Karmali, REF 401283, papildyta Karmali antimikrobinio priedo, REF 4240035), produktyvumas ir selektyvumas yra tikrinami lyginant rezultatus su anksčiau patvirtintomis etaloninėmis partijomis.

Produktyvumas tikrinamas kiekybiniu bandymu su tiksliniais štamais *C. coli* ATCC 43478 ir *C. jejuni* ATCC 33291; Karmali plokštelės inkuluojamos dešimtainiais tirpalais fiziologiniame tirpale iš kolonijų suspensijų ir inkubuojamos 39–42 °C temperatūroje 40–48 valandas mikroaerobinėje aplinkoje. Kolonijos suskaičiuojamos bandomojoje partijoje (TB) ir etaloninėje partijoje (RB) ir apskaičiuojamas produktyvumo santykis ( $Pr = CFU_{TB} / CFU_{RB}$ ). Jei  $Pr$  yra  $\geq 0,7$ , rezultatai laikomi priimtinais ir atitinkančiais specifikacijas.

Selektyvumas vertinamas modifikuotu Miles-Misra paviršiaus lašų metodu, įterpiančiam į lėkšteles tinkamus dešimtainius tirpalus fiziologiniame tirpale, kuriame yra 0,5 McFarland suspensijos netikslinių štamų *C. albicans* ATCC 18804, *E. coli* ATCC 8739, *S. aureus* ATCC 25823, *E. faecalis* ATCC 19433. Po 72 valandų inkubacijos 39–42 °C temperatūroje *C. albicans* yra iš dalies slopinamas, o kitų netikslinių štamų augimas yra visiškai slopinamas. Varoli ir kt.<sup>7</sup> palygino *Campylobacter* Blood Free Agar (Karmali) su CCDA Preston terpėmis naudodami 198 išmatų mėginius. *Campylobacter* spp. buvo aptiktas 8 mėginiuose abiejose terpėse, tačiau Karmali terpėje buvo rasta 5 izoliatai grynoje kultūroje, o CCDA Preston terpėje – tik 2 izoliatai. Nebuvo nustatyta reikšmingų skirtumų tarp abiejų terpių, susijusių su mielių ir gramneigiamų bacilų mikrobų užteršimo augimu; Karmali terpė buvo įvertinta kaip labiau slopinanti gramteigiamų bakterijų augimą.

Tikslumas buvo įvertintas peržiūrint kokybės kontrolės duomenis. Buvo įvertinti 30 partijų, pagamintų nuo 2019 m. spalio 1 d. iki 2020 m. gegužės 19 d., rezultatai. 100 % partijų atitiko nustatytus priimtumo kriterijus pagal produktyvumą su tikslinėmis padermėmis ir selektyvumą su netikslinėmis padermėmis.

## 12 - METODO RIBOTUMAI

- Dažniausiai Karmali terpėje randami teršalai yra *Enterobacteriaceae*, kurie dideliu kiekiu yra atsparūs cefoperazonui, ypač *Klebsiella oxytoca*.<sup>1</sup>
- Norint pasiekti didžiausią *Campylobacter* išmatų mėginių išieigą, optimalus metodas yra Karmali terpės ir antros selektyvios terpės, pagrįstos kitokia selektyvia sistema, derinys (pvz., Skirrow terpė).<sup>8</sup>
- Pailginus inkubacijos laiką nuo 48 iki 72 valandų, padidėja izoliavimo greitis.<sup>8</sup>
- Be kraujo turinčios terpės (pvz., Karmali, CCDA) atrodo veiksmingesnės nei kraujo turinčios terpės.<sup>3</sup>
- Klinikinis pranašumas, kurį suteikia sodrinimo sultiniai, sukurti siekiant pagerinti *Campylobacter* išskyrimą, nebuvo tinkamai ištyrtas.<sup>3</sup> Sodrinimas neatrodo būtinas mėginiams, paimtiems ūmios kampilobakteriozės fazės metu, o *Campylobacter* išskyrimas





padidėja besimptomiams pacientams, tyrimuose, kuriuose tiriamas mažas tikslinio organizmo skaičius, mėginiuose, kurie nėra lengvai siunčiami į laboratoriją, ir mėginiuose, paimtuose reabilitacijos fazėje po viduriavimo epizodo.<sup>9,10</sup>

- Šis prietaisas nėra skirtas infekcijoms diagnozuoti ar antimikrobinio gydymo rekomendacijoms teikti. Jis naudojamas diagnostinių tyrimų komplekte, siekiant gauti mikrobu kolonijas, izoliuotas iš klinikinių mėginių, paimtų iš pacientų, įtariamų turinčių virškinimo trakto infekciją. Norint visiškai identifikuoti kolonijas ir nustatyti jų epidemiologinį tipą, reikia atlikti atitinkamus tyrimus; jei reikia, atlikite antimikrobinio jautrumo tyrimus, naudodami rekomenduojamus metodus.
- Augimas terpėje priklauso nuo kiekvieno mikroorganizmo metabolizmo poreikių ir atsparumo esamiems antimikrobinėms medžiagoms; kai kurios tikslinės padermės gali neaugti arba augti lėčiau. Augimo nebuvimas arba tipinių kolonijų nebuvimas nereiškia, kad mėginyje nėra *Campylobacter*. Todėl rekomenduojama kartu naudoti kitas auginimo terpes, kad būtų galima išskirti patogenus mėginyje.

### 13 - ATSARGUMO PRIEMONĖS IR ĮSPĖJIMAI

- Šis produktas yra kokybinis *in vitro* diagnostikos prietaisas, skirtas tik profesionaliam naudojimui, nėra automatizuotas ir nėra papildoma diagnostikos priemonė. Jį turi naudoti tinkamai apmokyti ir kvalifikuoti laboratorijos darbuotojai, laikydami biologinio pavojaus atsargumo priemonių ir aseptikos reikalavimų.
- Pagal galiojančius Europos Sąjungos teisės aktus šis produktas nėra klasifikuojamas kaip pavojingas.
- Ši auginimo terpė yra gyvūninės kilmės žaliavų. Todėl rekomenduojama naudoti paruoštas plokšteles kaip potencialiai užkrečiamas ir elgtis su jomis laikantis įprastų specialiųjų atsargumo priemonių: nevertoti, neįkvėpti, neleisti liestis su oda, akimis, gleivinėmis. Atsisiųskite TSE pareiškimą iš svetainės [www.biolifeitaliana.it](http://www.biolifeitaliana.it), kuriame aprašomos priemonės, taikomos siekiant sumažinti su užkrečiamomis gyvūnų ligomis susijusią riziką.
- Visi laboratoriniai mėginiai turėtų būti laikomi infekciniais.
- Laboratorijos patalpos turi būti kontroliuojamos, kad būtų išvengta užteršimo, pvz., kultūrinės terpės ar mikrobu.
- Kiekviena šio auginimo terpės plokštelė skirta vienkartiniam naudojimui.
- Paruošti naudoti indai nelaikomi „steriliais produktais“, nes jie nėra galutinai sterilizuojami, bet yra produktai su kontroliuojamu biologiniu užteršimu, neviršijančiu kokybės kontrolės sertifikate nurodytų specifikacijų ribų.
- Prieš išmesdami sterilizuokite visas biologinio pavojaus atliekas ir išmeskite nenaudotą terpę bei sterilizuotas lėkšteles, į kurias buvo įterpti mėginiai arba mikrobu štamai, laikydami galiojančių vietos teisės aktų.
- Produkto analizės sertifikatai ir saugos duomenų lapas yra pateikti interneto svetainėje [www.biolifeitaliana.it](http://www.biolifeitaliana.it).
- Apie bet kokį rimtą incidentą, susijusį su *in vitro* diagnostikos priemonių naudojimui, praneškite gamintojui ([complaint@biolifeitaliana.it](mailto:complaint@biolifeitaliana.it)) ir atitinkamoms institucijoms.
- Gamintojas neatsako už jokių nuostolių ar žalą, kurie koku nors būdu atsiranda dėl produkto naudojimo nesilaikant pateiktų instrukcijų arba yra su tuo susiję.

### 14 - LAIKYMO SĄLYGOS IR GALIOJIMO LAIKAS

Gavus plokšteles, jas reikia laikyti originalioje pakuotėje 2–8 °C temperatūroje, apsaugant nuo tiesioginių saulės spindulių. Tinkamai laikomos plokštelės gali būti naudojamos iki galiojimo pabaigos datos. Po šios datos plokštelių naudoti negalima. Atidaryto plastikinio maišelio plokšteles galima naudoti 7 dienas, jei jos laikomos švarioje vietoje 2–8 °C temperatūroje. Plokštelių nenaudokite, jei plastikinis maišelis yra pažeistas arba indas yra sudaužytas. Plokštelių nenaudokite, jei yra gedimo požymių (pvz., mikrobu užteršimas, dehidratacija, terpės susitraukimas ar įtrūkimai, netipinė spalva, drėgmės perteklius).

### 15 - NUORODOS

- Corry JEL, Atabay HI. Culture Media for the Isolation of Campylobacters, Helicobacters and Arcobacters. *in Handbook of Culture Media for Food and Water Microbiology*, Edited by Corry JEL, Curtis GDW, Baird RM. Published by the Royal Society of Chemistry, 3rd Edition 2012.
- Public Health England. Investigation of Faecal Specimens for Enteric Pathogens. ID30. Issue 8.1. 2014
- Fitzgerald C, Nachamkin I. Campylobacter and Arcobacter. In Jorgensen JH, Carrol KC, Funke G et al. editors. *Manual of clinical microbiology*, 11th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2015. p.998.
- Karmali, M.A., Simor, A.E., Roscoe, M., Fleming, P.C., Smith, S.S., Lane, J. (1986) *J. Clin. Microbiol.* 21, 456-59
- Bolton FJ, Hutchinson DN, Coates D. A blood-free selective medium for the isolation of *C. jejuni* from faeces. *J Clin Microbiol* 1984; 19:169.
- UK Health Security Agency. UK Standards for Microbiology Investigations. Identification of Campylobacter species. ID23. Issued date 31.07.25.
- Varoli, O., Gatti M. (1989) Personal communication.
- Endtz HP, Ruijs GJ, et al. Comparison of six media including a semisolid agar for the isolation of various Campylobacter species from stool specimens. *J Clin Microbiol* 1991; 29:1007
- Bolton FJ, Robertson L. A selective medium for isolating Campylobacter jejuni/coli. *J Clin Pathol* 1982; 35:462
- Hutchinson DN, Bolton FJ. Is enrichment culture necessary for the isolation of Campylobacter jejuni from faeces? *J Clin Pathol* 1983; 36:1350-1352

### TAIKOMŲ SIMBOLIŲ LENTELĖ

 Katalogo numeris	 Partijos kodas	 <i>In vitro</i> diagnostikos medicinos prietaisas	 Gamintojas	 Šia puse į viršų	 Tik vienkartiniam naudojimui	 Europos atitikties ženklas
 Temperatūros apribojimai	 Turinio pakanka <n> bandymams	 Žiūrėkite elektronines naudojimo instrukcijas	 Naudoti iki	 Laikyti toliau nuo saulės spindulių	 Trapus, tvarkyti atsargiai	 Unikalus prietaiso identifikatorius

### REVIZIJŲ ISTORIJA

Versija	Pakeitimų aprašymas	Data
2 redakcija	Atnaujintas išdėstymas ir turinys pagal IVDR 2017/746	2020/08
3 redakcija	Pasenusios klasifikacijos pašalinimas	2023/03
4 redakcija	Metodo principas ir procedūros paaiškinimas, veikimo charakteristikos, metodo apribojimai, atsargumo priemonės ir įspėjimai, nuorodos, taikytinų simbolių lentelė.	2025/11

Pastaba: nedideli tipografiniai, gramatiniai ir formatavimo pakeitimai nėra įtraukti į redagavimo istoriją.

